

Studi Hifa Eksternal CMA dalam Memahami Fungsinya Mengkontribusi Serapan P Tanaman Menggunakan Metode *Thin Section*

Machfud Effendy dan Bhakti Wisnu Wijayani¹

Makalah diterima 8 Februari 2008 / disetujui 10 Agustus 2008

ABSTRACT

Study of the External Hyphae of AMF in Understanding the Function to Contribution of P Sorption by Plants Using the Thin Section Method (M. Effendy and B.W. Wijayani): The study of the external hyphae of AMF was conducted for getting data of the soil hyphae distribution from the observation using thin section preparation. The experiment was arranged in factorial fully randomized design. The first factors were dosages of P application: 0; 45; 90; 135; and 180 kg ha⁻¹. The second factors were AMF spore inoculation: with inoculation and without inoculation. The observations were conducted to roots and shoots oven dried, absorption of P, P³²- fertilizer and P³¹ from soil. The soil was separated from T-pots and to prepare for making the thin section of soil for observation to hyphae distribution at every 2 cm level. The experiment results showed that the prepared of thin section was documented at the 200 μm x 200 μm (= 40.000 μm^2) dimension can be used for external hifas observation. In the 400 μm^2 areas of soil without AMF inoculated has about 24 to 27 external hyphal, so at the 40.000 μm^2 areas has 2.400 until 2.700 hyphae. The soil was AMF inoculated has 19 to 25 hyphae at 400 μm^2 areas of soil, and in the 40.000 μm^2 areas has 1.900 until 2.500 hyphae and the length of hyphae about 67-75 m g⁻¹. The diameter hifas at soil without AMF inoculation about 8-10 μm , and at the soil with AMF inoculated has hyphae diameter about 8-11 μm , and the long of hyphae about 53-69 m g⁻¹. The growth speed of hyphae about 0.74-0.89 m day⁻¹ or about 0.031-0.035 m hour⁻¹. The inoculated plant with AMF spore gave more in contribution to P³² fertilizer and soil P³¹ than that in uninoculated plant, but the yield of shoot and root oven dried was higher for plants without inoculated AMF spore. The inoculated soil with spore of AMF caused to sum of AMF spore and soil P availability was higher than that in uninoculated soil.

Keywords: AMF, distribution, hypae, pot-T, thin section

PENDAHULUAN

Cendawan mikoriza arbuskular (CMA) yang hidupnya berasosiasi dengan akar tanaman dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui kontribusinya dalam penyerapan unsur hara yang relatif lambat mobilitasnya seperti P dan Zn. Jaringan hifa yang dibangun CMA berperan sangat penting dalam pelarutan unsur hara P dari sumber padatan, sekaligus berfungsi sebagai translokator ke dalam akar tanaman. Hifa eksternal lebih banyak mendominasi di zona rizosfir (Jacobson *et al.*, 1992), semakin jauh dari zona perakaran, hifa eksternal makin sedikit atau lebih pendek (Sylvia, 1990).

Penelitian tentang distribusi jaringan hifa eksternal menjadi penting terkait dengan fungsinya dalam memberikan kontribusi dalam penyerapan P

oleh tanaman. Studi tentang hifa eksternal tertuju pada sebaran di sekitar zona perakaran karena pada situs tersebut hifa berperan dominan dalam aktifitasnya menyerap unsur hara. Untuk mengukur panjang hifa dapat dinyatakan dalam meter per gram tanah atau meter tiap cm panjang akar (Sylvia, 1990).

Metode yang umum digunakan untuk mengamati sebaran hifa dan panjang hifa eksternal adalah dengan cara ekstraksi contoh tanah. Ada beberapa kesulitan dalam pengambilan contoh di zona perakaran, antara lain tercampurnya akar rambut dengan partikel tanah. Kesulitan lain adalah dalam ekstraksi sebagian hifa akan hilang selama proses, sehingga tidak menggambarkan hifa secara keseluruhan. Cara lain yang dimungkinkan untuk mengamati sebaran hifa adalah dengan menggunakan preparat irisan tipis (*thin*

¹Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Jawa Timur, Surabaya.

J. Tanah Trop., Vol. 13, No. 3, 2008: 241-255

ISSN 0852-257X

section) tanah yang dibuat dari tanah utuh, sehingga diperoleh data sebaran hifa yang natural dan aktual.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengembangkan cara lain dalam pengamatan hifa eksternal CMA menggunakan preparat irisan tipis tanah dengan harapan diperoleh data sebaran hifa secara natural.

BAHAN DAN METODE

Percobaan menggunakan pot bentuk T-tabung dari pipa PVC ukuran diameter 8 cm (Gambar 1). Lubang-samping tabung T dihubungkan pipa diameter 8 cm panjang 10 cm dan diberi sekat kain nilon berdiameter lubang pori 25 μm . Cara ini merupakan modifikasi dari metode yang digunakan Jacobsen *et al.* (1992). Untuk media tanam menggunakan pasir steril dan untuk pertumbuhan hifa eksternal menggunakan media tanah steril sebanyak 250 g kering udara (k.a. 14%) dengan bobot isi 0,9 g ml^{-1} .

Unsur hara yang digunakan untuk pupuk diberikan dalam bentuk larutan, dengan konsentrasi larutan hara seperti yang digunakan Handayanto (1994) yang disesuaikan. Unsur P yang diberikan adalah pupuk berlabel ^{32}P dalam senyawa NaH_2PO_4 , diperoleh dari PT Batan Jakarta sebanyak 1 ml dengan kekuatan radiasi 5,5 mCi. Pada saat diencerkan menjadi 600 ml, kekuatan radiasinya 1,72 μCi . Biji bawang prei didekambakkan dalam media pasir steril, dan setelah umur 1 bulan dipindahkan dalam pot-pot yang telah dipersiapkan. Cendawan *A. tuberculata* diisolasi dari inokulum dan diambil 10 spora dimasukkan dalam air steril dan diberikan pada tiap-tiap pot.

Perlakuan percobaan merupakan kombinasi dari 2 faktor. Faktor pertama adalah pupuk P berlabel P^{32} dengan dosis setara 0, 45, 90, 135 dan 180 kg P ha^{-1} . Faktor kedua adalah inokulasi CMA dan tanpa inokulasi. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 ulangan.

Tanaman dipanen pada umur 90 hst (hari setelah tanam). Media pasir dibongkar dan dicuci untuk memisahkan akar dari pasir. Bagian tajuk dan akar ditimbang bobot basah, kemudian diambil sub-contoh akar untuk pengamatan serapan P-akar. Sub-contoh akar sisanya dan seluruh tajuk dikeringkan dalam oven pada temperatur 70°C selama 48 jam kemudian ditimbang bobot keringnya, dan dipersiapkan untuk pengamatan serapan P total, serapan P^{32} -pupuk dan P^{31} -tanah. Tanah diambil sub-contoh untuk analisa asam-asam organik, fraksionasi-

P mineral, P-total, P-tersedia dan populasi spora CMA. Tanah dipersiapkan untuk pembuatan preparat irisan tipis tanah (*thin section*) setiap ketebalan 2 cm, sehingga didapat 5 irisan dari 10 cm tanah utuh.

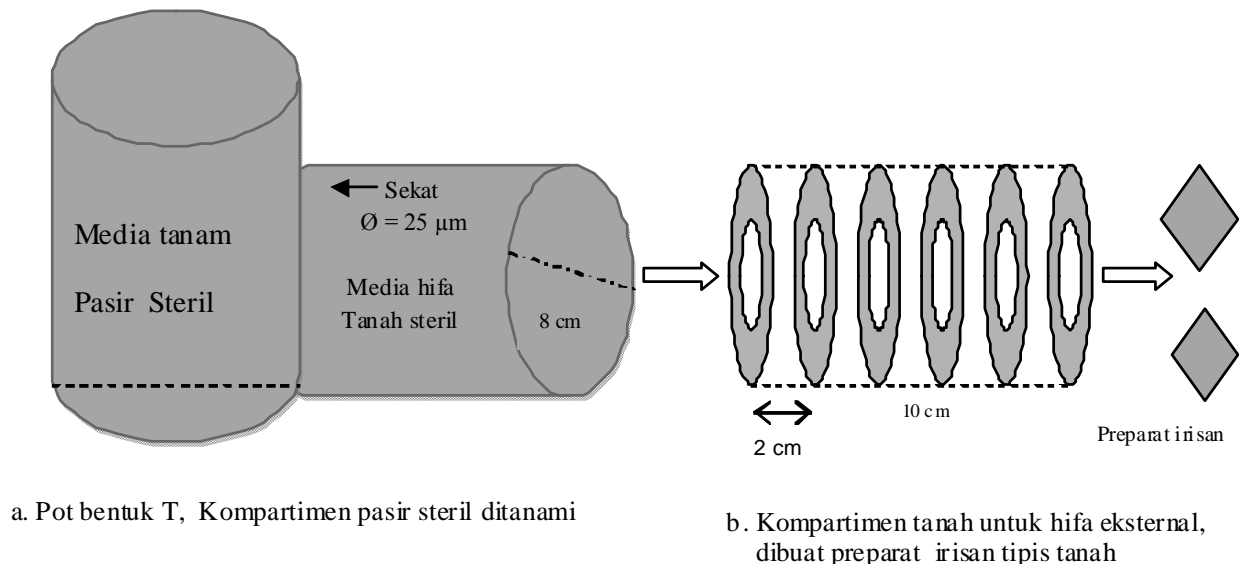
Penyerapan P^{31} -tanah oleh akar tanaman diasumsikan dilakukan oleh hifa eksternal dari CMA *A. tuberculata* bersama-sama non *A. tuberculata*. Perbedaan serapan unsur P^{31} oleh tanaman bermikoriza dan tanpa mikoriza merupakan unsur P^{31} -tanah yang diserap oleh hifa eksternal CMA *A. tuberculata*. Penyerapan P^{32} -pupuk diasumsikan dilakukan oleh akar tanaman. Perbedaan antara serapan P^{32} oleh tanaman bermikoriza dan tanpa mikoriza merupakan kontribusi yang diberikan oleh hifa CMA *A. tuberculata*.

Tanah yang digunakan untuk media tumbuh hifa adalah Andisol dari Sumberbrantas-Batu, sedangkan media tumbuh tanaman digunakan pasir. Baik tanah maupun pasir disterilkan terlebih dulu sebelum digunakan sebagai medium. Sifat-sifat tanah andisol dengan pH H_2O 6,3 dan pH KCl 5,8 ; kandungan C-organik 2,45% dan N 0,37% dengan C/N rasio 8 ; P-tersedia 102 mgkg^{-1} , dan BI (berat isi) tanah sebesar 0,98 g cm^{-3} . Komposisi unsur dalam cairan pupuk adalah sebagai berikut (Tabel 1).

Pembuatan preparat irisan tipis tanah

Parameter utama yang diamati adalah distribusi hifa eksternal dari preparat irisan tipis tanah. Metode *thin section* biasanya digunakan untuk pengamatan batuan dan mineralogy seperti biotite, carbonate, muscovite, olivine, dll. (Dutch, 2002). Pengamatan hifa eksternal CMA menggunakan preparat irisan tipis tanah ini sengaja diadopsi dari metode irisan tipis tanah untuk pengamatan mineralogi dengan harapan dapat diperoleh gambaran hifa secara natural.

Langkah-langkah dalam pembuatan preparat irisan tipis tanah sebagai berikut : (1) setelah tanaman dipanen, kompartimen tanah dalam tabung yang terakit dalam Pot-T dilepas dengan pelan dan hati-hati agar diperoleh contoh utuh. Pelepasan tanah ini masih dalam kelembaban kapasitas lapang, karena dalam kondisi ini kekompakan partikel tanah masih terjaga; (2) selanjutnya tanah dibawa ke Laboratorium Geografi UGM Yogyakarta untuk dilakukan pembuatan preparat irisan tipis tanah (*thin section*); (3) proses-proses yang berlangsung di dalam laboratorium mengikuti pentahapan dan memerlukan waktu sekitar 4-6 bulan sampai dapat dibuat irisan tanah; (4) tanah dalam tabung setelah kondisinya memenuhi ketentuan diberi 'resin' kemudian



Gambar 1. Penyiapan pot untuk media tanam dengan pasir steril dan untuk media tumbuh hifa eksternal

Tabel 1. Komposisi pupuk cair tanpa P (Handajanto, 1994).

Unsur	Konsentrasi (stok 1 liter)	Konsentrasi larutan (mg kg ⁻¹)
N	0,625 M KNO ₃ ; 62,22 g l ⁻¹	5,0
K	0,3125 M K ₂ SO ₄ : 54,4 g l ⁻¹	2,5
Ca	0,5 M CaC ₆ .6H ₂ O: 109,5 g l ⁻¹	5,0
Mg	0,15 M MgSO ₄ .2H ₂ O: 36,8 g l ⁻¹	1,6
Fe	0,1075 M NaFe EDTA: 39,458 g l ⁻¹	6,0
Mn	MnSO ₄ . H ₂ O: 1,53 g l ⁻¹	0,25
Mo	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O -. 0,035 g l ⁻¹	0,005
Zn	ZnSO ₄ .7H ₂ O 0,219 g l ⁻¹	0,025
Cu	CuSO ₄ .5H ₂ O 0,078 g l ⁻¹	0,01
Co	CoSO ₄ .7H ₂ O 0,0096 g l ⁻¹	0,001
B	H ₃ BO ₃ : 2,85 g l ⁻¹	0,25

Keterangan: P³² 1 ml diencerkan menjadi 600 ml, kemudian diaplikasikan sesuai perlakuan sbb.: P₀ = 0 ml, P₄₅ = 10 ml, P₉₀ = 20 ml, P₁₃₅ = 30 ml, dan P₁₈₀ = 40 ml.

didiamkan sampai pada kondisi yang memenuhi syarat untuk bisa dibuat irisan; (5) preparat yang dihasilkan dibuat dokumentasinya dalam ukuran dimensi yang ditentukan; dan (6) hasil pemotretan

preparat ini dapat diamati hifa dari berbagai aspek yaitu : jumlah hifa per satuan luas, panjang hifa, diameter hifa yang masih dalam kondisi alamiah (*natural*).

Pembuatan preparat irisan tipis tanah

Parameter utama yang diamati adalah distribusi hifa eksternal dari preparat irisan tipis tanah. Metode *thin section* biasanya digunakan untuk pengamatan batuan dan mineralogy seperti biotite, carbonate, muscovite, olivine, dll. (Dutch, 2002). Pengamatan hifa eksternal CMA menggunakan preparat irisan tipis tanah ini sengaja diadopsi dari metode irisan tipis tanah untuk pengamatan mineralogi dengan harapan dapat diperoleh gambaran hifa secara natural.

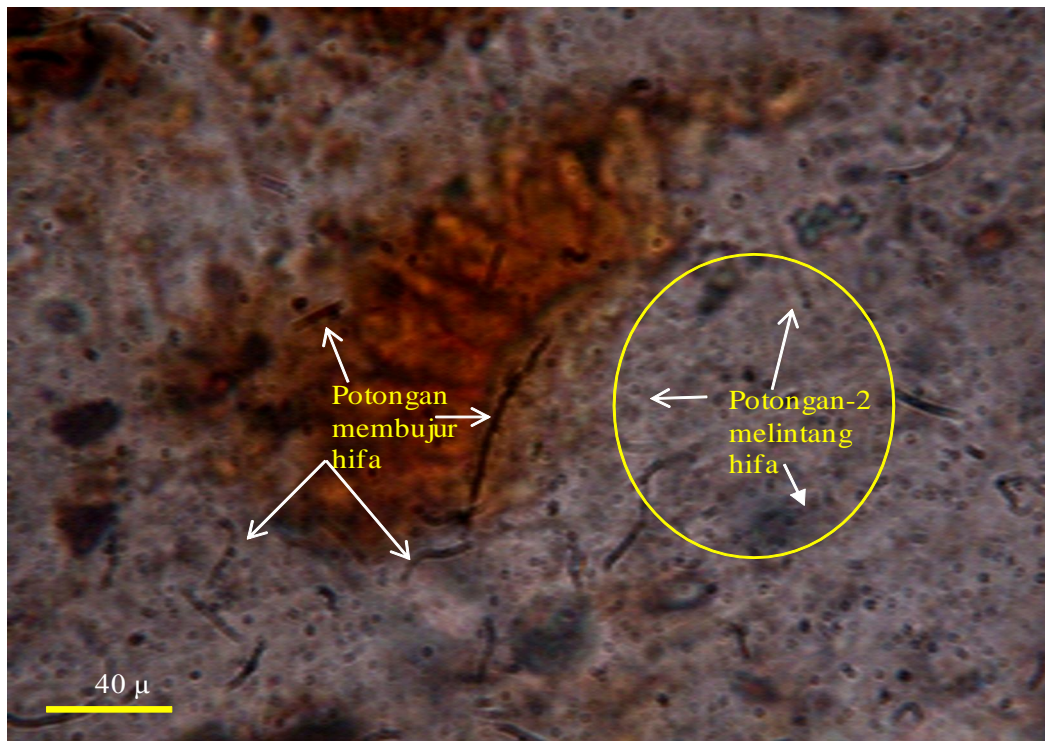
Langkah-langkah dalam pembuatan preparat irisan tipis tanah sebagai berikut : (1) setelah tanaman dipanen, kompartimen tanah dalam tabung yang terakit dalam Pot-T dilepas dengan pelan dan hati-hati agar diperoleh contoh utuh. Pelepasan tanah ini masih dalam kelembaban kapasitas lapang, karena dalam kondisi ini kekompakan partikel tanah masih terjaga; (2) selanjutnya tanah dibawa ke Laboratorium Geografi UGM Yogyakarta untuk dilakukan pembuatan preparat irisan tipis tanah (*thin section*); (3) proses-proses yang berlangsung di dalam laboratorium mengikuti pentahapan dan memerlukan waktu sekitar 4-6 bulan sampai dapat dibuat irisan

tanah; (4) tanah dalam tabung setelah kondisinya memenuhi ketentuan diberi 'resin' kemudian didiamkan sampai pada kondisi yang memenuhi syarat untuk bisa dibuat irisan; (5) preparat yang dihasilkan dibuat dokumentasinya dalam ukuran dimensi yang ditentukan; dan (6) hasil pemotretan preparat ini dapat diamati hifa dari berbagai aspek yaitu : jumlah hifa per satuan luas, panjang hifa, diameter hifa yang masih dalam kondisi alamiah (*natural*).

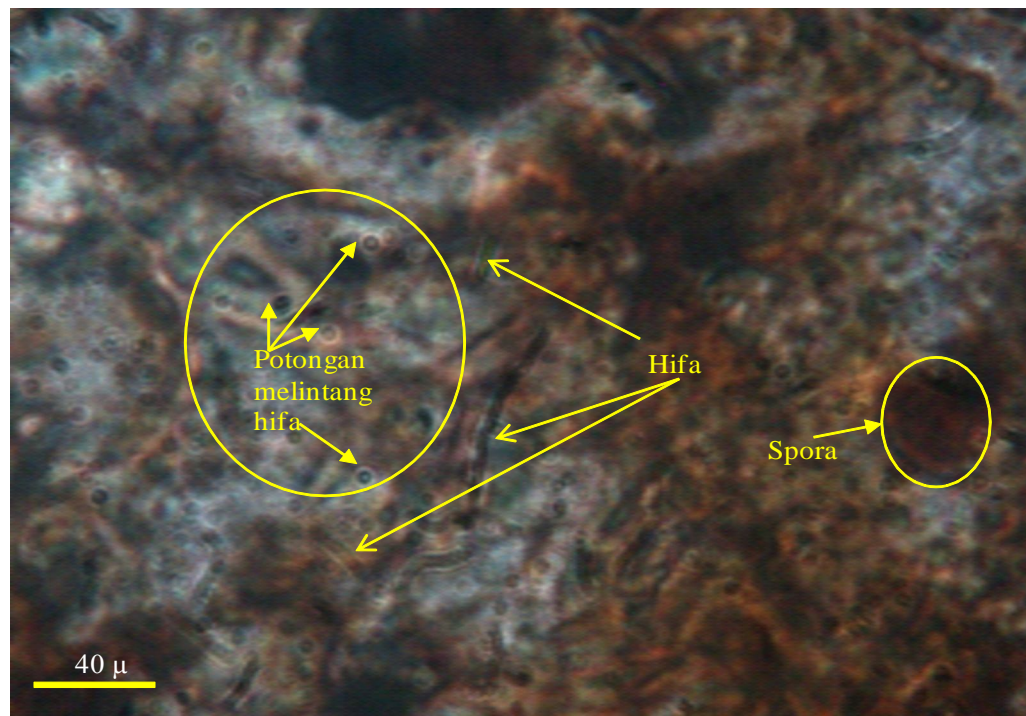
HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparat irisan tipis tanah '*thin section*'

Irisan tipis tanah yang berhasil dengan lengkap yaitu lapisan 0-2 cm; 2-4 cm ; 4-6 cm ; 6-8 cm ; dan 8-10 cm dari perlakuan P_0 dan P_0M , P_{45} dan P_{135} M. Sehingga kajian-kajian berikutnya berdasarkan obsevasi dari 4 set foto yang dihasilkan tersebut. Hasil dokumentasi foto preparat irisan tipis tanah seperti pada foto (Gambar 2), perlakuan tanpa pupuk P dan tanpa inokulasi CMA (0P-CMA), foto (Gambar 3), perlakuan dengan pupuk P dan inokulasi CMA (135 P + CMA).



Gambar 2. Foto hifa eksternal dari preparat irisan tipis tanah perlakuan (0P-CMA) dalam potongan-potongan membujur dan melintang



Gambar 3. Foto hifa eksternal dari preparat irisan tipis tanah perlakuan (135P+CMA) dalam potongan-potongan membujur dan melintang

Dalam pelaksanaan pembuatan irisan tipis tanah terdapat resiko kerusakan cukup tinggi mulai dari pembongkaran tanah saat panen dan penyiapan dalam prosesing di laboratorium sampai pembuatan irisan tipis tanah. Kendala teknis dalam pembuatan irisan tipis pada berbagai step antara lain: (1) saat pelepasan tabung berisi tanah dari 'set-pot (T)' memerlukan

kecermatan dan kehati-hatian. Dari 30 set pot (T) yang dilepas diperoleh 20 'tabung tanah' yang masih utuh, 10 rusak; (2) pemberian resin dilakukan di Laboratorium Geografi UGM dan proses pengeringan dalam oven yang harus diikuti perubahan temperatur yang tidak terlalu drastis agar tidak merusak komposisi tanah; (3) dalam proses pengeringan

Tabel 2. Distribusi hifa pada tanah tanpa inokulasi CMA dan dengan inokulasi CMA

Perlakuan	Tebal Tanah cm	Φ Hifa μm	Jumlah hifa				Panjang hifa (m)	
			Tiap 400 μ ²	Tiap 40.000 μ ²	Tiap mm ²	Tiap 5,03 cm ²	Tiap 2 cm	Tiap g tanah
- CMA	0-2	8	24	2.400	60.000	301.714.286	30.171	67
- CMA	2-4	8	26,5	2.650	66.250	333.142.857	33.314	74
- CMA	4-6	8	24	2.400	60.000	301.714.286	30.171	67
- CMA	6-8	9	27	2.700	67.500	339.428.571	33.943	75
- CMA	8-10	10	24,5	2.450	61.250	308.000.000	30.800	68
+ CMA	0-2	8	25	2.500	62.500	314.285.714	31.429	69
+ CMA	2-4	10	20	2.000	50.000	251.428.571	25.143	56
+ CMA	4-6	11	19	1.900	47.500	238.857.143	23.886	53
+ CMA	6-8	10	23,5	2.350	58.750	295.428.571	29.543	65
+ CMA	8-10	11	23,5	2.350	58.750	295.428.571	29.543	65

memberikan hasil yang tidak seluruhnya dapat dibuat irisan tipis tanah karena terjadi kerusakan-kerusakan; (4) irisan tipis yang berhasil diperoleh masih harus diberi perlakuan yakni digosok sampai halus setebal 200 μm . Dalam proses ini hampir bisa dipastikan berhasil dengan baik dan selanjutnya preparat ditutup dengan dekglas dan diberi pewarna *trypan blue* agar hifa lebih kontras; dan (5) preparat ini siap untuk dipotret dalam dimensi ukuran 200 μm x 200 μm . Hasil potret ini dapat diamati jumlah hifa, total panjang hifa, perkiraan diameter hifa.

Diamater, Jumlah, dan panjang hifa

Distribusi jumlah hifa setiap perlakuan dihitung berdasarkan pengamatan pada obyek foto hifa eksternal yang disajikan dalam foto-foto preparat sebagai berikut : 1), Distribusi hifa pada tanah (-CMA) dan (+CMA) tanpa pupuk P (Po) disajikan pada Gambar 2, distribusi hifa pada tanah dipupuk 45 kg P Ha^{-1} (-CMA) dan 135 kg P Ha^{-1} (+CMA) disajikan pada Gambar 3. Hasil pengamatan dan penghitungan hifa disajikan dalam (Tabel 2).

Ukuran (diameter) hifa

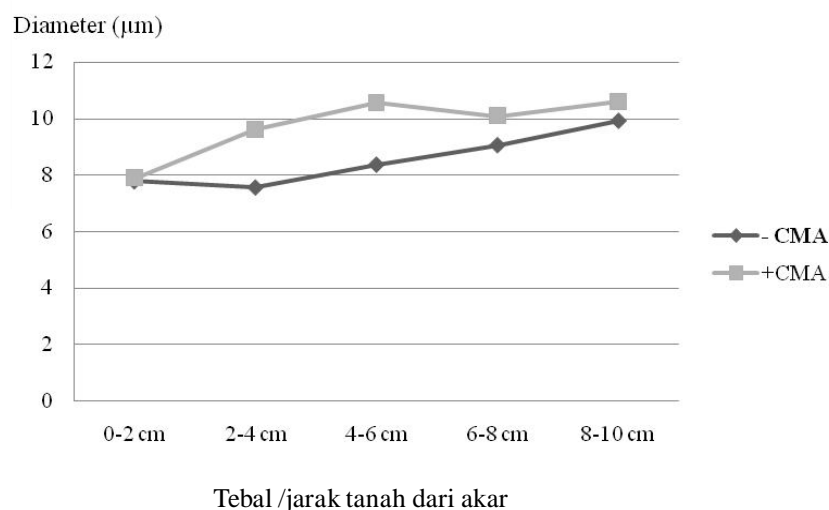
Diameter hifa diukur berdasarkan perkiraan jumlah total hifa menduduki area bidang tanah yang diamati. Baik tanah tanpa inokulasi mikoriza (-CMA) dan tanah yang diinokulasi mikoriza (+CMA) memiliki hifa eksternal. Nampaknya kontaminasi secara alamiah tetap berlangsung sehingga dalam tanah yang disterilkan masih tumbuh mikrobia

termasuk cendawan mikoriza dan bakteri ataupun cendawan lainnya. Hifa yang terekam dalam foto kemungkinan termasuk hifa yang tidak bisa musnah oleh sterilisasi. Hifa yang baru terbentuk berwarna bening ('hyaline') dan hifa yang sudah tua berwarna gelap (Sylvia, 1990). Pada tanah tanpa inokulasi mikoriza (-CMA), rata-rata memiliki hifa dengan ukuran antara 8-10 μm , sedikit lebih kecil dibandingkan dengan tanah yang diinokulasi mikoriza (+CMA) yang mempunyai diameter hifa antara 8-11 μm .

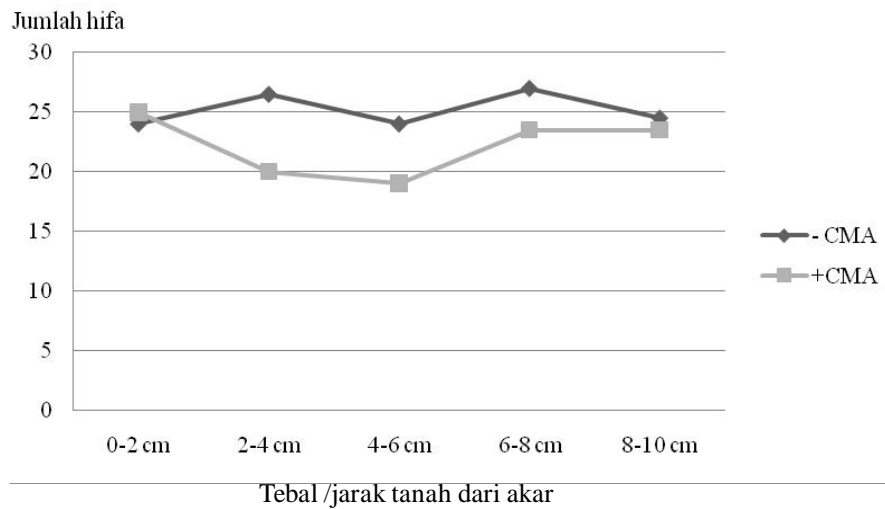
Tidak mudah untuk membedakan hifa dari tanah yang diinokulasi mikoriza dengan hifa dari tanah tanpa inokulasi mikoriza. Menurut Sylvia (1990) belum diketahui dengan jelas perbedaan hifa CMA dengan hifa lainnya. Ukuran hifa eksternal pada setiap ketebalan tanah dari 0-2 cm sampai dengan 8-10 cm disajikan dalam (Gambar 4). Diameter hifa pada tanah yang diinokulasi mikoriza (+CMA) sedikit lebih besar daripada tanah yang tidak diinokulasi mikoriza (-CMA).

Jumlah hifa

Jumlah hifa yang disajikan dalam (Tabel 2) dihitung berdasar luas bidang pengamatan 400 μ^2 . Pada ketebalan tanah 2-4 cm tanpa mikoriza (-CMA) terdapat hifa eksternal dengan jumlah 26,5 hifa/400 μ^2 , sehingga dalam luas tabung berdiameter 8 cm dijumpai hifa eksternal sebanyak 333.142.857. Tanah bermikoriza (+CMA) pada ketebalan tanah 0-2 cm dalam sebidang luas 400 μ^2 terdapat hifa sebanyak 20, sehingga pada luas tabung berdiameter



Gambar 4. Ukuran (diameter) hifa pada setiap 2 cm ketebalan tanah.

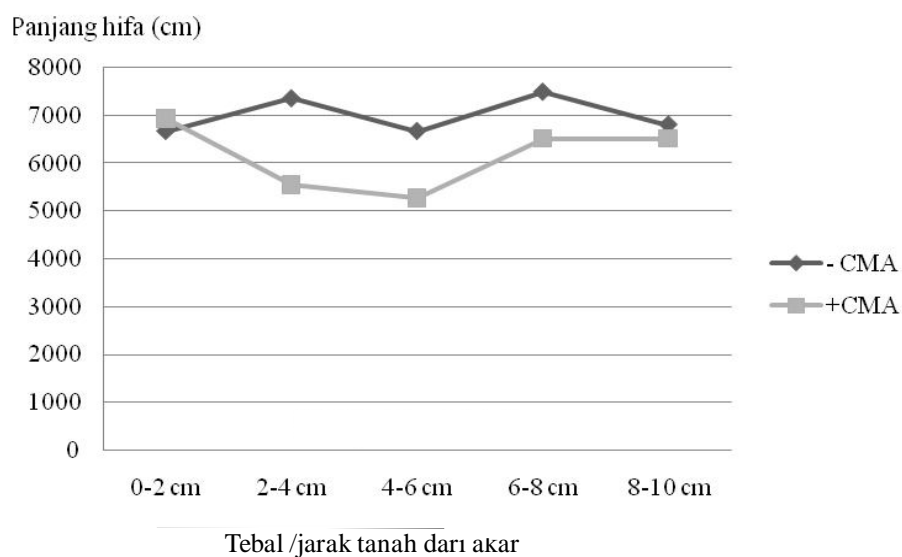


Gambar 5. Jumlah hifa setiap ketebalan 2 cm tanah

8 cm terdapat hifa eksternal sebanyak 251.428.571. Distribusi hifa eksternal pada setiap 2 cm baik pada tanah (-CMA) dan tanah (+CMA) disajikan dalam (Gambar 5). Jumlah hifa eksternal tanah (-CMA) lebih banyak daripada tanah (+CMA). Kemungkinan berkaitan dengan ukuran hifa, tanah (+CMA) berdiameter agak besar tetapi jumlahnya lebih sedikit, sedangkan tanah (-CMA) dengan diameter lebih kecil tetapi jumlah hifanya lebih banyak.

Panjang hifa

Panjang hifa dalam (Tabel 2) dihitung berdasar berat (g) tanah (Sylvia, 1990). Pada luasan bidang tanah 400 μ^2 , panjang hifa eksternal pada ketebalan 0-2 cm pada tanah (-CMA) sepanjang 67 m, sedangkan tanah (+CMA) sepanjang 69 m. Panjang hifa pada setiap ketebalan tanah 0-2 cm sampai dengan 8-10 cm pada tanah (-CMA) dan tanah (+CMA) disajikan dalam (Gambar 6). Tanpa



Gambar 6. Panjang hifa eksternal pada setiap ketebalan 2 cm tanah.

inokulasi mikoriza menunjukkan kecenderungan lebih panjang hifa eksternalnya dibandingkan dengan tanah yang diinokulasi mikoriza pada setiap ketebalan tanah yang diamati.

Diduga hifa eksternal dekat perakaran efektif melakukan eksploitasi terhadap sumber P tanah. Fungsi hifa di dalam tanah antara lain memperpendek jarak difusi ion fosfat dari larutan tanah ke permukaan akar dan memperluas permukaan akar untuk menyerap P, serta meningkatkan afinitas dalam penyerapan P dan menurunkan ambang batas konsentrasi fosfat yang diperlukan dalam pengambilan P (Tinker, 1980 dan Bolan, 1991). Oleh karena itu perkembangan hifa di daerah terdekat (0-2 cm) dari perakaran ini diasumsikan sebagai representasi zona perakaran.

Li *et al.* (1991) dalam penelitiannya menggunakan pot khusus dimana perkembangan hifa ditempatkan dalam kompartimen tanah yang terpisah dari kompartimen tanaman. Hasilnya menunjukkan bahwa hifa terpanjang terdapat di dekat perakaran, dan semakin jauh dari perakaran makin pendek panjang hifanya. Jacobsen *et al.* (1992) mengamati kepadatan atau panjang hifa eksternal dari cendawan *S. calospora*, ternyata juga menurun dengan bertambahnya jarak dari perakaran, sedangkan kepadatan hifa eksternal cendawan *A. laevis* cenderung membentuk *plateau* pada 7 dan 11 cm dari akar.

Laju Pertumbuhan hifa

Laju pertumbuhan hifa eksternal tanah dinyatakan dalam (m hari⁻¹) atau (m jam⁻¹) selama tanaman ditumbuhkan (90 hari). Dari data panjang hifa tiap g tanah menghasilkan angka-angka hitungan

seperti dalam (Tabel 3). Rata-rata pertumbuhan hifa eksternal pada tanah (-CMA) sedikit lebih cepat daripada tanah (+CMA). Hifa memiliki percepatan pertumbuhan sekitar 0,74–0,83 m hari⁻¹ atau sekitar 0,031–0,035 m jam⁻¹. Penambahan panjang hifa ini nampaknya jauh lebih cepat dibandingkan dengan pertumbuhan akar tanaman, sehingga kemungkinan jaringan hifa mikoriza dengan segera memenuhi zona rizosfir. dan dengan segera memberikan kontribusi pada akar tanaman untuk menyerap unsur hara. Nampaknya perkembangan hifa antara tanah (+CMA) dan (- CMA) tidak berbeda.

Serapan P dan laju serapan P oleh akar dan tajuk tanaman

Serapan P oleh akar tanaman bawang prei yang dipanen umur 90 hari dan laju serapan P³² dan P³¹ tanah seperti yang dicantumkan dalam (Tabel 4) menunjukkan bahwa P total yang diserap bagian akar (- CMA) lebih sedikit daripada tanaman (+CMA) pada semua takaran pupuk P³² yang diaplikasikan. Dari total P yang diserap, sekitar 90 % adalah P³²-pupuk dan sisanya dianggap berasal dari P³¹-tanah.

Laju serapan P³² dan P³¹ yang berkontribusi oleh hifa eksternal tanah menunjukkan percepatan yang berbeda baik oleh akar (Tabel 4) maupun bagian tajuk (Tabel 4). Pada tanah (+CMA) memiliki laju serapan P³² dan P³¹ lebih cepat dibandingkan dengan tanaman (-CMA). Hal ini menunjukkan bahwa hifa eksternal dari tanah (+CMA) akar tanaman lebih intensif dalam menyerap P³² dan P³¹ dibandingkan dengan tanaman (-CMA).

Laju serapan unsur hara P oleh akar dan tajuk pada tanah (-CMA) sebesar 0,000216307 µg g⁻¹det⁻¹ dan pada tanah (+CMA) sebesar 0,000325617 µg g⁻¹

Tabel 3. Rata-rata pertumbuhan hifa.

Perlakuan	Ketebalan (cm)	Pertumbuhan hifa	
		(m hari ⁻¹)	(m jam ⁻¹)
- CMA	0-2	0,74	0,031
- CMA	2-4	0,82	0,034
- CMA	4-6	0,74	0,031
- CMA	6-8	0,83	0,035
- CMA	8-10	0,76	0,032
+ CMA	0-2	0,77	0,032
+ CMA	2-4	0,62	0,026
+ CMA	4-6	0,59	0,024
+ CMA	6-8	0,73	0,030
+ CMA	8-10	0,73	0,030

$^{1}\text{det}^{-1}$ pada tanah tidak dipupuk P (P_0). Berarti inokulasi CMA memberikan kontribusi pada serapan P. Demikian pula P^{32} lebih banyak diserap akar dan tajuk oleh perlakuan inokulasi mikoriza (+CMA) daripada yang tanpa inokulasi mikoriza (-CMA). Hasil serupa juga dilaporkan Johansen *et al.* (1993) bahwa tanaman yang dikolonisasi cendawan mikoriza spesies *G. intraradice* mengakumulasi unsur hara berlabel (^{32}P dan ^{15}N) lebih banyak daripada tanaman tanpa mikoriza. Dari kenyataan ini dapat dikatakan bahwa akar bermikoriza dan tanpa mikoriza sama-sama menyerap unsur hara P^{32} dari sumber yang sama (Stribley, 1987; Bolan, 1991; Bucher, 2007).

Nampaknya tanaman akan segera menyerap P yang bersumber dari larutan tanah, yang diindikasikan

lebih banyaknya P^{32} yang diserap akar diinokulasi mikoriza daripada tanpa inokulasi mikoriza. Hal ini sebagai kenyataan bahwa akar akan segera menyerap P dari 'pool' labil dari pada padatan, seperti juga dikatakan oleh Guillemain *et al.* (1995) dan Bolan (1991).

Ekskresi asam organik dan fraksionasi P

Ekskresi asam-asam organik pada tanaman yang diinokulasi cendawan mikoriza (- CMA) dan tanpa inokulasi mikoriza (+ CMA) disajikan dalam (Tabel 6). Kadar asam organik yang diamati adalah asam oksalat dan asam sitrat. Rata-rata kadar asam oksalat dan asam sitrat yang diekskresi akar bermikoriza

Tabel 4. Serapan P akar tanaman dan laju serapan P^{32} dan P^{31} oleh hifa eksternal tanah

Perlakuan	Serapan P-akar (mg g^{-1})	Serapan P^{32} akar (mg g^{-1})	Serapan P^{31} akar (mg g^{-1})	Laju serapan P ($\mu\text{g g}^{-1} \text{det}^{-1}$)	Laju serapan P^{32} ($\mu\text{g g}^{-1} \text{det}^{-1}$)	Laju serapan P^{31} ($\mu\text{g g}^{-1} \text{det}^{-1}$)
P0	1,030	0	0	0,000132459	0	
P45	1,033	0,982	0,051	0,000132845	0,000126286	6,55864E-06
P90	1,037	0,987	0,050	0,000133359	0,000126929	6,43004E-06
P135	1,042	0,985	0,056	0,000134002	0,000126672	7,20165E-06
P180	1,048	0,991	0,057	0,000134774	0,000127443	7,33025E-06
P0M	1,174	0		0,000150977		
P45M	1,178	1,049	0,129	0,000151492	0,000134902	1,65895E-05
P90M	1,178	1,054	0,124	0,000151492	0,000135545	1,59465E-05
P135M	1,183	1,052	0,131	0,000152135	0,000135288	1,68467E-05
P180M	1,186	1,056	0,130	0,000152521	0,000135802	1,67181E-05

Tabel 5. Serapan P tajuk tanaman dan laju serapan P^{32} dan P^{31} oleh hifa eksternal tanah

Perlakuan	Serapan P-tajuk (mg g^{-1})	Serapan P^{32} akar (mg g^{-1})	Serapan P^{31} akar (mg g^{-1})	Laju serapan P ($\mu\text{g g}^{-1} \text{det}^{-1}$)	Laju serapan P^{32} ($\mu\text{g g}^{-1} \text{det}^{-1}$)	Laju serapan P^{31} ($\mu\text{g g}^{-1} \text{det}^{-1}$)
P0	1,682	0		0,000216307		
P45	1,682	1,608	0,074	0,000216307	0,000206790	9,51646E-06
P90	1,682	1,615	0,067	0,000216307	0,000207690	8,61626E-06
P135	1,694	1,617	0,076	0,00021785	0,000207948	9,77366E-06
P180	1,691	1,619	0,072	0,000217464	0,000208205	9,25926E-06
P0M	2,532	0		0,000325617		
P45M	2,526	2,408	0,118	0,000324846	0,000309671	1,51749E-05
P90M	2,548	2,407	0,141	0,000327675	0,000309542	1,81327E-05
P135M	2,570	2,420	0,150	0,000330504	0,000311214	1,92901E-05
P180M	2,585	2,426	0,159	0,000332433	0,000311986	2,04475E-05

Keterangan: Kontribusi hifa CMA = selisih P (+CMA) dengan P (-CMA).

Tabel 6. Asam-asam organik yang diekskresi oleh akar (-CMA) dan(+CMA).

Dosis P ³² kg ha ⁻¹	Asam oksalat (%)		Asam sitrat (%)	
	-CMA	+ CMA	-CMA	+CMA
0	0,63	1,3	0,11	0,15
45	1,30	1,47	0,42	0,58
90	0,98	1,17	0,46	0,17
135	1,08	2,34	0,42	2,24
180	0,77	1,24	1,70	1,24
Rata-rata	0,98	1,54	0,62	0,88

Tabel 7. Kadar P-total dan fraksi-fraksi P-padatan

Fraksi P-tanah	-CMA (mg kg ⁻¹)	+CMA (mg kg ⁻¹)
P-total	1,274	1,210
Al-P	1,116	1,002
Fe-Mn-P	260	250
Ca-Mg-P	679	598
Res-P	265	218

(+CMA) lebih tinggi dibanding dengan akar tanpa inokulasi mikoriza (-CMA). Kadar asam-asam organik yang lebih tinggi pada tanaman diinokulasi mikoriza memungkinkan proses pelarutan P-padatan anorganik di zona perakaran menjadi P-tersedia lebih efektif daripada tanaman yang tanpa inokulasi mikoriza.

Kadar P-total, Al-P, Fe-Mn-P, Ca-Mg-P dan Residu-P sebagai akibat inokulasi mikoriza (+CMA) dan tanpa inokulasi mikoriza (-CMA) disajikan dalam (Tabel 7). Nampaknya dengan perlakuan inokulasi mikoriza (+ CMA) cenderung mereduksi komposisi

P yang terikat dalam senyawa Al-P, Fe-Mn-P, Ca-Mg-P maupun Residu-P.

Populasi spora CMA dan P-tersedia

Tanah yang diinokulasi mikoriza (+CMA) menghasilkan populasi spora lebih banyak daripada tanah tanpa inokulasi (-CMA) (Tabel 8). Hal ini karena tanah yang diinokulasi menghasilkan propagul terutama jaringan hifa eksternal lebih aktif yang bisa tumbuh menjadi spora. Barea (1991) juga melaporkan hal yang sama. Sementara itu populasi spora dalam tanah yang tidak diinokulasi mikoriza mungkin berasal dari propagul tanah bukan mikoriza walaupun laju pertumbuhannya sedikit lebih cepat. Cendawan MA secara positif memperbaiki tingkat kesuburan tanah karena dapat meningkatkan ketersediaan unsur-unsur hara seperti P, N, dan unsur-unsur lainnya (Barea,1991; Bielecki, 1973; Clarkson, 1985).

Pembahasan

Walaupun pembuatan irisan tipis tanah mengalami handicap yang cukup besar, namun hasil irisan tipis yang dibuat sudah dapat memberikan gambaran informasi yang natural tentang eksistensi dan kedudukan hifa eksternal di dalam tanah yang utuh.

Tabel 8. Pengaruh inokulasi mikoriza terhadap spora CMA dan P-tersedia dalam tanah.

Dosis P ³² (kg ha ⁻¹)	Jumlah spora		P-tersedia (mg kg ⁻¹)	
	-CMA	+CMA	-CMA	+CMA
0	116	656	28,48	28,72
45	380	620	28,73	29,72
90	472	742	28,51	30,29
135	480	712	30,03	30,45
180	556	868	26,72	31,85

Dalam bidang pengamatan seluas 40.000 μm^2 terdapat hifa antara 1.200 sampai 4.200 hifa, dengan diameter antara 14,55 μm sampai 4,76 μm . Sehingga dalam luasan 1 mm^2 terdapat hifa antara 47.500 hifa sampai 66.250 hifa. Satu informasi yang tidak bisa dilihat dengan kasat mata, namun bisa diamati melalui representasi dalam skala laboratorium. Penampilan hifa yang terlihat dalam irisan tipis sebagian besar adalah hifa yang terpotong melintang, dan sebagian kecil teriris membujur. Pada potongan melintang akan terlihat hifa dengan bentuk bulat-bulat, dan yang teriris membujur terlihat isi dari hifa eksternal. Sehingga sangat memungkinkan dengan metode irisan tipis tanah dapat digunakan untuk melakukan kajian anatomi hifa.

Dari sajian data tersebut dapat dihitung panjang hifa dalam satu luasan atau volume tanah. Dalam 1 gram tanah diperoleh panjang hifa antara 67-75 m, dengan percepatan pertumbuhan hifa adalah 0,74 - 0,83 m hari^{-1} atau 0,031 - 0,035 m jam^{-1} .

Distribusi hifa dari ketebalan 0-2 cm sampai 8-10 cm dari perakaran memberikan representasi bahwa jarak terdekat 0-2 cm bisa diargumentasikan sebagai hifa dalam zona rizosfir. Sedangkan kepadatan hifa menggambarkan kontribusinya terhadap sistem perakaran antara lain dalam penyerapan P dari dalam larutan tanah ataupun dari padatan tanah. Dalam kajian ini menunjukkan bahwa hifa mikoriza akan segera memanfaatkan P^{32} yang berada dalam posisi larutan, disamping juga memanfaatkan P^{31} tanah.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil percobaan pot bentuk T untuk pembuatan preparat irisan tipis tanah dapat diambil kesimpulan bahwa irisan tipis tanah memerlukan waktu cukup lama dalam preparasinya dan memiliki potensi error yang cukup tinggi sehingga diperlukan kecermatan dan kehati-hatian dalam pelaksanaannya. Preparat yang dihasilkan dari irisan tipis tanah dapat didokumentasikan dalam foto ukuran dimensi mikro sehingga dapat mengamati hifa CMA eksternal yang memiliki ukuran diameter sampai terkecil 5-8 μm . Dalam luasan bidang obyek pengamatan dapat diamati jumlah hifa dan panjang hifa dalam 1 gram tanah. Eksistensi hifa eksternal dapat berkontribusi serapan P oleh tanaman yang berasal dari larutan dan padatan tanah.

Saran

1. Karena untuk membuat preparat dari irisan tipis tanah memerlukan waktu relatif lama (5-6 bulan) dan memiliki resiko kesalahan dalam teknik pembuatannya yang cukup tinggi, agar mempersiapkan secara cermat.
2. Ketergantungan terhadap jenis 'resin' yang digunakan seyogyanya harus dipastikan bahwa 'resin' tersebut bisa didapat.
3. Data eksistensi hifa eksternal tanah yang diperoleh memang natural, dapat disimpan dan dimanfaatkan sebagai acuan dasar untuk kajian mekanisme serapan P oleh akar tanaman.

UCAPAN TERIMA KASIH

Disampaikan terima kasih kepada Direktur DP2M Dikti yang telah membiayai penelitian Fundamental untuk tahun anggaran 2007. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada Kepala Laboratorium Geografi Fakultas Geologi Universitas Gajah Mada yang memberikan ijin dalam pembuatan irisan tipis tanah, dan Ketua Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang yang telah memberikan ijin untuk analisis tanah dan isolasi spora CMA.

DAFTAR PUSTAKA

- Barea, J.M. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifier of soil fertility. In: *Advance in Soil Science* by: Springer-Verlag, New York. Vol. 15: 1-40.
- Bielecki, R.L., 1973. Phosphorus pools, phosphate transport and phosphate availability. *Am. Rev. Plant Physiol.* 24: 225-252.
- Bolan, N.S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant Soil* 134: 189-207.
- Bucher, M. 2007. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytol.* 173: 11-26.
- Clarkson, D.T. 1985. Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 36: 77-115.
- Dutch, S. 2002. *Natural and Applied Sciences*, University of Wisconsin - Green Bay.
- Guillemin, J. P., M. O. Orozco, V. Gianinazzi-Pearson, and S. Gianinazzi. 1995. Influence of phosphate fertilization on fungal alkaline phosphatase and succinate dehydrogenase activities in arbuscular mycorrhiza of soybean and pineapple. *Agric. Ecosystems Environ.* 53 (1): 63-69.

- Handayanto, E. 1994. Nitrogen mineralization from legume tree prunings of different quality. Thesis of Doctor Philosophy, Univ. of London.
- Johansen, A., I. Jacobson and E.S. Jensen. 1993. External hyphae of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum*. Hyphal transport of ^{32}P and ^{15}N . *New Phytol.* 124: 61-68.
- Li, X.L., E. George, and H. Marschner. 1991. Extension of the phosphorus depletion zone in VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil. *Plant Soil* 136: 41-48.
- Stribley, D.P. 1987. Mineral nutrition. In: G.R. Safir (Ed). *Ecophysiology of Vesicular-arbuscular Mycorrhizae* plants. CRC Press Florida, pp. 59-70.
- Sylvia, D.M. 1990. Distribution, structure and function of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In J.E. Box and L.H. Hammond (Eds). *Rhizosphere Dyamics*. Westview Press, Boulder, Colo., pp. 144-167.
- Tinker, P.B. 1980. Role of rhizosphere microorganisms in phosphorus uptake by plants. In: F.E. Khas, E.C. Sample, and E.J. Kamprath (Eds). *The Role of Phosphorus in Agriculture*. Am. Soc. Agron. Madison, Wisconsin, pp. 617-654.